

Identification of Microorganisms

Patent Number: GB2037811

Publication date: 1980-07-16

Inventor(s):

Applicant(s):: ORION YHTYMAE OY

Requested Patent: FR2442268

Application Number: GB19790040147 19791120

Priority Number(s): FI19780003555 19781121

IPC Classification: C12M1/00 ; C12M1/22

EC Classification: C12M1/20, C12Q1/04

Equivalents: DE2946691, FI57128B, FI57128C, SE7909543

Abstract

A kit for the identification of microorganisms, is made up of a plate 10 subdivided into several compartments A, B at least some of which B contain a solid medium 13 on which a microorganism can grow after the addition of one or more nutrients and at least one of which A preferably contains a solid medium containing all the nutrients necessary for microorganism growth, and a variety of different solid tablets supplying the nutrient(s) lacking from the media in the compartments B in a variety of ways. The morphology of the microorganism to be identified is studied in compartment A and its metabolism when presented with a variety of different candidate nutrients, usually in the tablets, is studied in the compartments B, these compartments preferably being used merely to study carbohydrate and nitrogen

metabolism and its reaction to the urease test.



Data supplied from the esp@cenet database - I2

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :
(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 442 268

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 79 28589

(54) Procédé d'identification de micro-organismes.

(51) Classification internationale. (Int. Cl 3) **C 12 M 1/18; C 12 Q 1/04.**

(22) Date de dépôt 20 novembre 1979.
(23) (32) (31) Priorité revendiquée : *Demande de brevet déposée en Finlande le 21 novembre 1978,
n. 3555/78.*

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — «Listes» n. 25 du 20-6-1980.

(71) Déposant : Société dite : ORION-YHTYMA OY, résidant en Finlande.

(72) Invention de : Jouko Savolainen.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Ores, 6, avenue de Messine, 75008 Paris.

La présente invention est relative à un procédé perfectionné d'identification des microorganismes n contrôlant leur métabolisme azoté et leur métabolisme des glucides, ainsi que leur morphologie. On entend par "microorganismes" ou 5 "microbes", essentiellement des actinomycètes, des levures et des bactéries.

En médecine humaine et vétérinaire aussi bien que dans l'industrie alimentaire et dans l'industrie des fermentations, l'identification des microorganismes est importante. La connaissance de l'identité d'un microbe est indispensable pour choisir un procédé pour le détruire ou pour modifier ses conditions de croissance ou de développement. L'identification de microorganismes pathogènes est essentielle pour déterminer leur pathogénicité et pour choisir la 15 thérapeutique appropriée.

Les microorganismes sont utiles dans l'industrie alimentaire et dans l'industrie fermentaire, mais ils sont également fréquemment contaminants. Ces contaminants doivent être identifiés afin que l'on puisse retrouver leur 20 origine et que l'on puisse choisir la meilleure voie pour empêcher la poursuite de leur développement et leur propagation.

L'identification des microbes est principalement fondée sur leur morphologie, sur leur aptitude à utiliser 25 différents glucides et différentes sources d'azote, sur les conditions de développement qu'ils exigent et sur certaines autres caractéristiques.

Les tests d'assimilation des glucides et les tests relatifs au métabolisme azoté peuvent être effectués 30 selon trois méthodes fondamentalement différentes, à savoir : la méthode auxanographique, la méthode de Wickerham qui utilise des tubes contenant du bouillon de culture ,et la méthode du tube incliné,qui a été développée par le même Auteur. Ces méthodes ont été décrites dans le "Manual of 35 Clinical Microbiology", 2ème Edition, 1974, p.491-507, et dans le "Journal of Clinical Microbiology" 2, N°1, 1975, p.21-34.

Les méthodes mentionnées ci-dessus et leurs différentes variantes présentent certains inconvénients.

Elles requièrent un équipement important - tubes à essais, plaques, milieux de culture , etc... - , elles occupent beaucoup de place et sont, de ce fait, encombrantes, elles sont compliquées et prennent beaucoup de temps. De plus, le 5 risque de contamination augmente en fonction du nombre des phases de travail et de la quantité de matériel mise en œuvre.

Pour éliminer ces inconvénients, la Demandereuse a mis au point un procédé et un dispositif qui permettent 10 de réaliser tous les tests requis, sauf les tests de fermentation, dans une seule plaque qui est subdivisée en plusieurs compartiments. De ce fait, on réduit de façon fondamentale le matériel, le temps et le travail requis, aussi bien que le nombre d'étapes de travail.

15 Le but de l'invention est atteint en réalisant tous les tests, qu'il s'agisse des tests du métabolisme azoté ou des tests du métabolisme des glucides, qui sont requis pour l'identification, de même que la culture requise pour réaliser les tests morphologiques, dans une seule plaque.

20 Le dispositif qui fait l'objet de la présente invention est une plaque stérile, carrée, couverte, subdivisée en quatre compartiments carrés par des cloisons étanches qui s'élèvent à partir du fond de la plaque et qui se croisent à angles droits. La dimension et le nombre des sections sont variables.

L'invention sera mieux comprise à l'aide du complément de description qui va suivre, qui se réfère au dessin annexé dans lequel :

- la Figure 1 représente une plaque contenant des milieux de 30 culture et des comprimés,
- la Figure 2 est une vue en coupe verticale de la plaque de la Figure 1, et
- la Figure 3 est une vue de dessus de la plaque de la Figure 1.

35 Le compartiment A des Figures 1 et 3 est destiné à la réalisation d'études morphologiques, mais il peut être éventuellement utilisé pour d'autres tests.

Dans le fond de chaque compartiment est placé un milieu d'agar-agar solidifié, légèrement tamponné ou non-tamponné, qui convient à la réalisation d chaque test. Le milieu d'agar-agar peut contenir ou non un indicateur ; en 5 variante, l'indicateur peut être ajouté après l'incubation. On inocule dans le milieu d'agar-agar une quantité appropriée d'une suspension du microorganisme à tester. Après l'inoculation, on introduit dans le milieu d'agar-agar des comprimés contenant les substances nutritives nécessaires à la croissances des microbes, les substances à tester et des substances de charge ainsi que des liants pharmacologiquement compatibles, à l'aide d'un distributeur de type connu, qui convient 10 à l'usage en association avec la plaque précitée.

On peut faire varier le nombre et le type des 15 tests en fonction des nécessités de l'identification des microorganismes respectifs. Pour atteindre ce but, on fait varier les milieux de culture utilisés conformément à l'invention et les comprimés introduits dans les milieux solidifiés susdits.

20 Lorsque l'on examine des levures, par exemple, le milieu de culture introduit dans le compartiment A est généralement de la gélose de farine de maïs, qui est un milieu bien connu, mais l'on peut également utiliser d'autres milieux présentant une faible valeur nutritive.

25 Ce milieu de culture est le seul milieu de culture complet dans le système d'identification et il ne requiert pas l'addition de comprimés conformes à l'invention. Il y a suffisamment de place dans le compartiment pour placer un couvercle de verre de manière à pouvoir réaliser une analyse au microscope directement dans la plaque et il n'est pas nécessaire de réaliser, dans ce but, des préparations séparées. Pour faciliter l'analyse au microscope, on peut ajouter des agents colorants au milieu.

Les milieux de culture requis pour réaliser 35 les tests des glucides et le test témoin sont constitués par de l'agar-agar (ou gélose), un indicateur et un tampon. On peut utiliser comme indicateur n'importe quel indicateur de pH sensible à la formation d'acide et à la diminution du pH

au-dessous de 5,5, tel que, par exemple, le pourpre de bromo-crésol ou le bleu de bromothymol. L'on ajuste le pH du milieu à la valeur moyenne de la gamme de couleurs de l'indicateur et on tamponne légèrement le milieu pour empêcher des variations occasionnelles du pH, par exemple à l'aide d'un tampon phosphate 5-10 mM.

Pour tester l'aptitude à l'utilisation des ions nitrate et ammonium dans le métabolisme azoté, on utilise un milieu de culture qui contient de l'agar-agar et un indicateur tel que, par exemple, le bleu de bromothymol, et l'on ajuste le pH entre le bleu et le jaune, par exemple à pH 6,4.

Pour réaliser le test de l'uréase, on utilise un milieu de culture qui contient de l'agar-agar et un indicateur tel que le rouge de phénol, par exemple. Le pH est ajusté à 6,9.

Le système d'identification requiert seulement quatre milieux de culture différents dont un seul, le milieu d'examen de la morphologie, est complet. Les autres milieux ne contiennent pas de substances nutritives ; de ce fait, l'on restreint de façon efficace la croissance des contaminants.

Comme quatre milieux différents seulement sont requis, cette méthode d'identification est beaucoup moins laborieuse que les autres méthodes connues, dans lesquelles il faut préparer différents milieux de culture pour chaque test séparé. En même temps, la stabilité des milieux utilisés dans ce système est meilleure, et les étapes de travail sont moins nombreuses. L'indicateur ne doit pas nécessairement être contenu dans le milieu mais il peut être introduit à l'aide d'une pipette dans ce dernier, après l'incubation.

D'autres composants nécessaires des substrats d'examen - tels qu'une source de carbone, une source d'azote, des oligo-éléments et des vitamines - sont contenus dans les comprimés qui, conjointement avec le milieu contenu dans la plaque, constituent l'ensemble de maintien de la croissance. Chaque comprimé contient les substances nutritives nécessaires

à la croissance des microbes (par exemple les composants des milieux utilisés dans la méthode de Wickerham qui utilise des tubes contenant des bouillons de culture), la substance à tester et des substances de charge inertes. Ces dernières peuvent être n'importe quelles substances de charge de comprimés, utilisables sur le plan pharmacologique, qui libèrent dans le milieu, pendant la culture dans la plaque, les composants requis pour la croissance. De telles substances sont, par exemple, la cellulose et ses dérivés. Les liants, tels que des produits plastiques qui conviennent dans des buts pharmacologiques, peuvent être utilisés pour améliorer la solidité des comprimés et faciliter leur préparation.

La composition d'un comprimé de glucides, en pourcentages, est la suivante : glucides : 12,7-25,4 % ; substances nutritives nécessaires à la croissance du micro-organisme - par exemple levure Difco constituant la source d'azote - : 4,3 % ; substances de charge : 60,6-74,5 %, et liant : 9,5 %.

On peut utiliser pour la préparation des comprimés de glucides, divers monosaccharides, disaccharides, oligosaccharides et polysaccharides solides cristallisés ou d'autres sources de carbone solide.

Pour effectuer le test témoin, on prépare un comprimé qui contient tous les composants sauf le glucide. Ce comprimé convient également pour tester les sources de carbone qui ne cristallisent pas, notamment l'éthanol ou le glycérol. Dans ce but, on place un comprimé qui ne contient pas de glucides dans le compartiment correspondant de la plaque et on introduit dans le comprimé, à l'aide d'une pipette, une quantité appropriée d'une source de carbone, à une concentration physiologiquement tolérable. Par exemple, on peut utiliser de l'éthanol ou du glycérol dans une solution à 20 %, auquel cas la quantité convenable sera de 50 µl/comprimé.

La composition d'un comprimé de nitrate, d'ammonium ou d'urée, est la suivante : source d'azote : 2,5 % ; substances nutritives nécessaires - par exemple levure Difco utilisée comme source de carbone - : 3,0 % ; substances de

charge : 85,0 g ; liant : 9,5 g.

L'assortiment de base en comprimés pour une plaque comprend : témoin positif pour la source d'azote $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, nitrate, témoin des glucides (sans glucide), glucose, maltose, saccharose, inositol, lactose, cellobiose, rafinose, mélibiose, érythritol, xylose, dulcitol, trehalose, et urée. On peut ajouter des substances à cette liste ou en enlever, selon les besoins de l'identification du micro-organisme en question.

10 Les comprimés sont mis en place à l'aide d'un distributeur conçu et réalisé tout particulièrement pour cette plaque. Le distributeur comporte un tube pour chaque comprimé en sorte que d'une seule pression, chaque comprimé parvient à la place qui lui est assignée. La masse à partir de laquelle 15 le les comprimés doivent être réalisés est soumise à une force de compression pour donner lieu à des comprimés de poids déterminé, qui sont suffisamment durs pour ne pas se décomposer sur le milieu de culture lorsqu'ils sont humidifiés.

La méthode présentement décrite offre des 20 avantages considérables. La quantité de matière et la manipulation de cette dernière sont réduites, attendu que tous les tests sont réalisés dans la même plaque au lieu que chacun des tests ait lieu dans un tube à essais séparé. L'espace nécessaire au stockage, à l'incubation et au travail proprement 25 dit est considérablement économisé et les tests sont plus rapides et plus fiables. Les préparations destinées à la réalisation des tests sont faciles et plus rapides à faire attendu que la totalité de la plaque peut être préparée instantanément et dans la même position. Il ne faut que quatre 30 milieux de culture au lieu d'un milieu pour chaque tube à essais. La préparation de comprimés est simple et rapide. On n'a pas besoin de solutions de substances nutritives qui se contaminent facilement et de ce fait, l'opération de préparation et de stérilisation de ce type de solutions, qui est réellement pénible (en particulier la stérilisation de solutions de sucre 35 par filtration) peut ainsi être évitée ; il n'est pas nécessaire que les comprimés soient stérilisés dans la mesure où les processus de préparation sont suffisamment aseptiques.

On évite le séchage des rondelles de papier-filtre, le pipetting des solutions, etc... Le risque de contamination est beaucoup plus faible attendu que le système ne contient pas de milieu de culture complet sauf celui qui est utilisé pour 5 le test morphologique. Les plaques et les comprimés peuvent être conservés à la température ambiante. L'identification est réalisée rapidement et les résultats peuvent être lus après incubation de la plaque.

L'invention sera mieux comprise à l'aide des 10 exemples qui vont suivre, qui montrent comment l'invention s'applique à l'identification de levures, d'actinomycètes et de bactéries.

Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration de 15 l'objet de l'invention dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

EXAMPLE 1 -

On réalise une culture pure de levure provenant d'un échantillon clinique, sur de la gélose de Sabouraud. On 20 prépare une suspension d'une ou de deux colonies de levure dans de l'eau distillée stérile. On inocule la suspension sur de la gélose de farine de maïs à l'aide d'une aiguille, en rayant la surface d'un bord à l'autre. L'une des extrémités de la rayure est couverte d'une couvercle de verre stérile 25 tandis que l'autre extrémité demeure non couverte. On introduit deux gouttes de la même suspension de levure, à l'aide d'une pipette Pasteur, dans tous les autres compartiments de la plaque. On maintient la suspension de levure à la température ambiante pour les besoins ultérieurs. Les comprimés sont 30 alors introduits dans le milieu de culture, dans leurs compartiments respectifs, à l'aide d'un distributeur conçu à cet effet. La plaque est placée avec le bon côté sur le dessus, dans un incubateur à 25°C.

On examine la croissance sur la gélose de farine 35 de maïs au microscope, directement dans la plaque, au bout de deux et de trois jours, en utilisant un grossissement x 700 et un éclaircissement de champ très clair. On constate que la levure forme des hyphes, mais qu'il ne se forme pas de

chlamydospores et d'arthrospores. Les autres tests donnent les résultats suivants : après une incubation pendant un durée d trois jours, le témoin d'azote positif est positif. La levure se développe sur le milieu et la couleur du milieu 5 est jaune, comme elle doit l'être. Le test du nitrate est négatif, c'est-à-dire que la couleur du milieu est jaune. Le témoin de glucide a, comme cela se doit, sa couleur vert foncé d'origine. Parmi les sucres, le glucose, le maltose, le saccharose, le xylose et le tréhalose sont positifs ; d'autres 10 sucres et l'urée sont négatifs.

Les résultats indiquent que la levure peut être soit *Candida neoformans*, soit *Candida parapsilosis*. Un test de fermentation confirme que la levure est *Candida parapsilosis*.

15 EXEMPLE 2 -

On isole de la levure à partir de lait d'une vache souffrant de mastite chronique, et on réalise une culture pure. Pour identifier la levure, on utilise la méthode qui a été décrite plus haut. Les mesures préparatoires sont les 20 mêmes que celles qui viennent d'être décrites. Pour lire les résultats, on examine au microscope la croissance microbienne sur la gélose de farine de maïs après deux jours d'incubation. La levure forme des hyphes et des pseudohyphes, et il se forme des arthrospores à partir des pointes des hyphes, 25 par fragmentation. Les témoins d'azote et de glucide donnent des réactions correctes, qui montrent que la plaque et l'incubulum conviennent à l'usage qu'on leur a assigné.

Le test du nitrate est négatif. Parmi les sucres, le glucose, le lactose, le xylose et le dulcitol sont 30 positifs ; le maltose, le saccharose, l'inositol, le cellobiose, le raffinose, le mélibiose, l'érythritol et le tréhalose sont légèrement positifs. Le test de l'urée est positif.

Sur la base de ces résultats, on a identifié que la levure est du *Trichosporon cutaneum*.

35 EXEMPLE 3 -

On isole de la levure de jus d'orange avarié, et on réalise une culture pure. On identifie la levure par la même méthode que celle qui vient d'être décrite plus haut

et les mesures préparatoires sont les mêmes que celles qui viennent d'être décrites.

La levure forme des pseudohyphes sur la gélose de farine de maïs. Les autres résultats qu'on a pu observer au bout de quatre jours sont les suivants : les témoins sont corrects. Le test du nitrate est positif. En ce qui concerne les sucres, les tests du glucose, du maltose, du saccharose, du cellobiose, du raffinose, de l'érythritol et du tréhalose sont nettement positifs ; le test du xylose est légèrement positif ; les tests de l'inositol, du lactose, du mélibiose et du dulcitol sont négatifs. Le test de l'urée est positif.

La levure a été identifiée comme étant *Hansenula anomala*.

EXEMPLE 4 -

15 L'aptitude des bactéries *Escherichia coli* (sero-groupe 0149) à assimiler les glucides et à réduire les nitrates, de même que leur production d'uréase ont été étudiées en utilisant le système d'identification décrit plus haut.

On a fait incuber *E.coli* pendant une nuit dans une bouillie de substances nutritives à 37°C. La culture bactérienne a été isolée du milieu par centrifugation et mise en suspension dans de l'eau distillée stérile. Comme dans l'identification des levures, on a introduit une goutte de suspension à l'aide d'une pipette dans chaque milieu de culture dans la plaque, après quoi les comprimés respectifs ont été ajoutés. Les plaques ont été incubées pendant une nuit à 37°C. La lecture des résultats a été effectuée de la même façon qu'en ce qui concerne l'identification des levures.

E.coli (serogroupe 0149) réduit le nitrate en nitrite (on obtient une couleur rouge par addition d'une goutte d'acide sulfanilique et d' α -naphtylamine). Elle ne forme pas d'uréase; elle assimile le glucose, le maltose, le lactose, le raffinose, le mélibiose, le xylose et le tréhalose mais n'assimile pas le saccharose, l'inositol, le cellobiose, l'érythritol ou le dulcitol. Les réactions positives et négatives sont nettes et correspondent à celles décrites dans la Littérature.

Le système convient à l'étude des propriétés

mentionnées ci-dessus sur la base desquelles on a identifié *Escherichia coli*, et plus particulièrement les souches d'*Enterobacteriacées*.

EXEMPLE 5 -

5 Le système d'identification décrit ci-dessus a été utilisé pour identifier des souches de *Streptomyces* en étudiant leur aptitude à utiliser les glucides et les nitrates pour produire de l'uréase.

On a préparé une suspension d'une culture de 10 streptomycète isolée de la boue du fond d'un lac et maintenue sur de la gélose de caséinate de sodium inclinée, dans de l'eau distillée stérile, comme décrit plus haut pour les levures. On a introduit à l'aide d'une pipette, une goutte de la suspension sur chaque surface de gélose et on a ajouté les 15 comprimés correspondants. La plaque a été maintenue pendant dix jours à 25°C, après quoi on a lu les résultats.

La souche étudiée a été cultivée sur de la gélose de farine de maïs, et a formé des hyphes et des petites colonies vertes. La souche a utilisé de façon active du 20 nitrate, mais l'hydrolyse de l'urée a été faible. En outre, cette souche assimile la totalité des douze glucides, à savoir le glucose, le maltose, le saccharose, l'inositol, le lactose, le cellobiose, le raffinose, le méliobiose, l'érythritol, le xylose, le dulcitol et le tréhalose.

25 Les tests des glucides et du nitrate ont été très nettement positifs.

Il résulte de la description qui précède que, quels que soient les modes de mise en œuvre, de réalisation et d'application adoptés, l'on obtient un procédé d'identification de microorganismes qui présente par rapport aux 30 procédés visant au même but antérieurement connus, des avantages importants dont certains ont été mentionnés dans ce qui précède et dont d'autres avantages ressortiront de l'utilisation dudit procédé d'identification de microorganismes.

35 Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en œuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être décrits de façon plus explicite ; elle en embrasse au contrai-

re toutes les variant s qui peuvent venir à l'esprit du technicien en la matière, sans s'écarte du cadre, ni de la portée, de la présente invention.

REVENDICATIONS

1. Système d'identification de microorganismes en étudiant leur métabolisme des glucides et leur métabolisme azoté, ainsi que leur morphologie, de manière à réaliser la totalité des tests dans une même plaque carrée subdivisée, dont l'un des compartiments est utilisé pour le test morphologique et contient le seul milieu de culture solidifié complet du système, tandis que les autres compartiments contiennent différents milieux de gélose solidifiés tamponnés et non-tamponnés, avec ou sans indicateur, pour la réalisation des tests du métabolisme des glucides et du métabolisme azoté, ainsi que du test de l'urée, lequel système est caractérisé en ce que ces milieux de gélose solidifiés utiles pour réaliser les tests du métabolisme azoté et du métabolisme des glucides ainsi que le test de l'urée, ne contiennent pas de substances nutritives nécessaires à la croissance de microorganismes et en ce qu'après l'inoculation, on place sur ces milieux solidifiés des comprimés qui contiennent ou ne contiennent pas la substance à tester, d'autres substances nutritives nécessaires à la croissance du microorganisme et des charges et des liants pharmacologiquement compatibles.

2. Procédé d'identification de microorganismes en étudiant leur métabolisme des glucides, leur métabolisme azoté et leur morphologie, caractérisé en ce que quatre milieux de culture seulement sont utilisés dans une plaque subdivisée en compartiments, et en ce que seulement l'un de ceux-ci, le milieu utilisé pour le test morphologique, est complet, tandis que les trois autres, c'est-à-dire ceux qui sont utilisés pour les tests du métabolisme des glucides et du métabolisme azoté ainsi que pour le test de l'urée, ne contiennent qu'un milieu de gélose tamponné ou non, avec ou sans indicateur, et en ce qu'après l'inoculation, on introduit dans ces milieux des comprimés qui contiennent ou non la substance à tester, une source de glucides ou d'azote, d'autres substances nutritives nécessaires à la croissance du microorganisme et des charges et des liants pharmacologiquement compatibles.

3. Procédé pour la réalisation de tests du métabolisme des glucides selon l'une quelconque des Revendications 1

et 2, caractérisé en ce qu'on utilise du pourpre de bromo-cresol ou du bleu de bromothymol comme indicateur dans le milieu de culture solidifié qui est uniquement constitué par de la gélose, et en ce que le milieu est tamponné à pH 5,5 à l'aide d'un tampon phosphate 5-10 mM.

4. Procédé selon l'une quelconque des Revendications 2 et 3 pour la mise en oeuvre du système selon la Revendication 1, caractérisé en ce que les comprimés utilisés dans les tests contiennent des glucides à raison de 12,7-25,4 %, d'autres substances nutritives nécessaires à la croissance du microorganisme à raison de 4,3 %, une charge à raison de 60,6 à 74,5 % et un liant à raison de 9,5 %.

5. Procédé selon l'une quelconque des Revendications 2 à 4, caractérisé en ce que le comprimé témoin pour le test des glucides ne contient pas de glucides.

6. Procédé selon l'une quelconque des Revendications 2 à 5, caractérisé en ce que les glucides à tester peuvent être des monosaccharides, des disaccharides, des oligosaccharides ou des polysaccharides.

20 7. Procédé d'examen de sources de carbone qui ne cristallisent pas, selon l'une quelconque des Revendications 2 à 6, caractérisé en ce que l'on utilise un comprimé témoin de glucides sur lequel on introduit à l'aide d'une pipette la source de carbone qui ne cristallise pas.

25 8. Procédé pour la réalisation de tests du métabolisme azoté selon l'une quelconque des Revendications 1 et 2, caractérisé en ce que l'on utilise du bleu de bromothymol comme indicateur dans le milieu de culture solidifié qui est uniquement constitué par de la gélose, et en ce que le pH du milieu est ajusté à 6,4.

30 9. Procédé selon l'une quelconque des Revendications 1, 2 et 8, caractérisé en ce que les comprimés utilisés dans les tests contiennent une source d'azote à raison de 2,5 %, d'autres substances nutritives nécessaires à la croissance du microorganisme à raison de 3,0 %, de l'excipient à raison de 85,0 % et un liant à raison de 9,5 %.

10. Procédé pour la réalisation de tests d'uréase selon l'une quelconque des Revendications 1 et 2, caractérisé

en ce que le milieu de culture fixé dont le pH est ajusté à 6,9, est uniquement constitué par de la gélose et en ce qu'on utilis du rouge de phénol comme indicateur.

11. Procédé selon l'une quelconque des Revendications 5 1,2 et 10, caractérisé en ce que les comprimés utilisés contiennent de l'urée à raison de 2,5 %, d'autres substances nutritives nécessaires à la croissance du microorganisme à raison de 3,0 %, un excipient à raison de 85 % et un liant à raison de 9,5 %.

10 12. Procédé de réalisation de tests du métabolisme des glucides et du métabolisme azoté selon l'une quelconque des Revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'indicateur peut être ajouté à la surface du milieu, après la culture.

15 13. Procédé selon l'une quelconque des Revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'on utilise de la cellulose ou ses dérivés comme charges dans le comprimé.

14. Procédé selon l'une quelconque des Revendications 1 à 13, caractérisé en ce que l'on utilise des produits plastiques comme liants dans le comprimé.

20 15. Dispositif pour l'identification de microorganismes pour la mise en oeuvre du système et du procédé selon l'une quelconque des Revendications 1 à 14, caractérisé en ce que tous les tests sont réalisés dans la même plaque stérile, carrée, couverte, qui est subdivisée en plusieurs compartiments par des cloisons étanches qui s'élèvent à partir du fond de la plaque et qui se croisent entre elles à angles droits, en ce que l'on peut faire varier le nombre et la dimension de ces compartiments et en ce qu'on place sur le fond de la plaque, un milieu de gélose solidifiée, tamponné 25 ou non, propre à chaque test et contenant ou non un indicateur, et en ce qu'après l'inoculation, on introduit dans le milieu de culture, des comprimés contenant la substance à tester, d'autres substances nutritives nécessaires à la croissance du microorganisme et des excipients ainsi que des liants 30 pharmacologiquement compatibles.

PL.UNIQUE

2442268

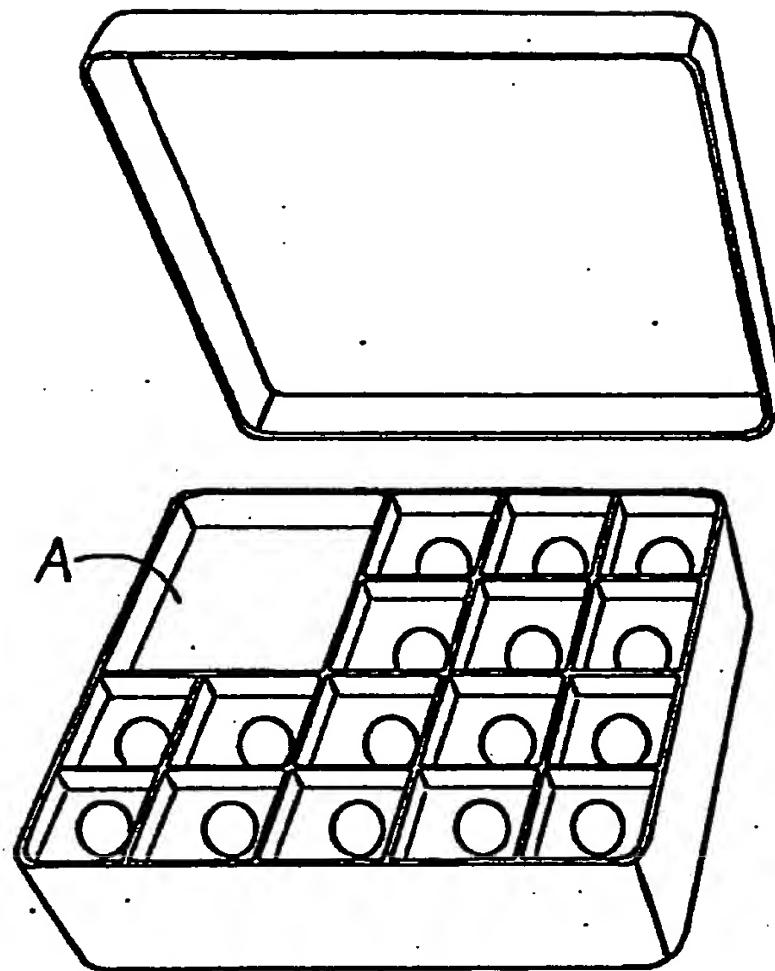


FIG.1

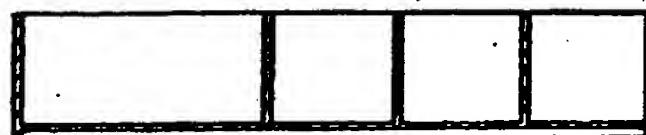


FIG.2

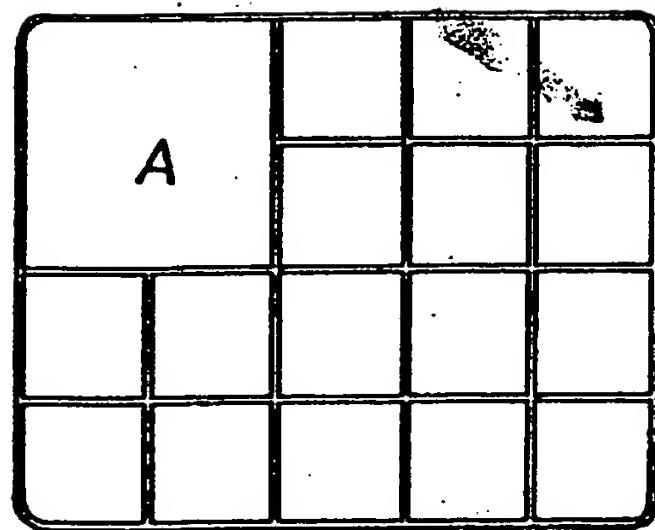


FIG.3